

# Use of compositions containing inhibitors of desmosome degradation to prevent skin-flaking during prophylactic or cosmetic treatment of dry skin

Patent Number : **DE19950020**

International patents classification : A61K-007/48 A61K-031/00

## • Abstract :

DE19950020 A NOVELTY - Use is claimed in the topical prophylactic or cosmetic treatment of dry skin of a composition which contains a skin-compatible carrier and an inhibitor for desmosome-degrading proteinases.

USE - In skin treatment to prevent breakdown of desmosome structures, the compositions being used as alcohol solutions, gels, O/W or W/O emulsions, e.g. in shampoos.

ADVANTAGE - A wide range of inhibitors prevent skin-flaking (desquamation) caused by (preferably serine) proteases and help to retain the keratinocytes. (Dwg.0/0)

## • Publication data :

Patent Family : **DE19950020** A1 20010419 DW2001-36 A61K-007/48 13p \* AP: 1999DE-1050020 19991016 WO200128536 A2 20010426 DW2001-36 A61K-031/00 Ger AP: 2000WO-EP09833 20001007 DSNW: AU BR CA CN CZ HU JP MX NO PL SK US DSRW: AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE AU200110225 A 20010430 DW2001-48 A61K-031/00 FD: Based on WO200128536 AP: 2001AU-0010225 20001007 EP1221948 A2 20020717 DW2002-54 A61K-031/00 Ger FD: Based on WO200128536 AP: 2000EP-0971338 20001007; 2000WO-EP09833 20001007 DSR: AL AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LT LU LV MC MK NL PT RO SE SI  
Priority n° : 1999DE-1050020 19991016  
Covered countries : 37  
Publications count : 4

## • Patentee & Inventor(s) :

Patent assignee : (HENK ) HENKEL KGAA  
Inventor(s) : FOERSTER T; SAETTLER A; SCHLOTSMANN K; WEISS A

## • Accession codes :

Accession N° : 2001-336587 [36]  
Sec. Acc. n° CPI : C2001-104147

## • Derwent codes :

Manual code : CPI: D08-B04 E07-D03 E10-B02D E10-B02D6  
Derwent Classes : D21 E19  
Compound Numbers : RA46XQ-K RA46XQ-M

## • Update codes :

Basic update code :2001-36  
Equiv. update code :2001-36; 2001-48; 2002-54

## Others :

Technology Abstract

### TECHNOLOGY FOCUS

*ORGANIC CHEMISTRY - Preferred Materials:*

*The inhibitor acts against serine (especially trypsin- or chymotrypsin-type) proteinases and is boric acid and/or a derivative, 4-(2-aminoethyl)phenylsulfonyl fluoride (e.g. Pefabloc (TM)), a compound containing the pentapeptide sequence glycine-proline-phenylalanine-proline-leucine (GPFPL) or Elhibin (TM) (leguminous seed-derived product).*

*Preferred Composition: The inhibitor is present at ca. 0.001-20 wt. %.*

Keyword Index Terms [1] 402606-0-0-0-CL

UP4 2001-06

UE4 2001-06; 2001-08; 2002-08

**BEST AVAILABLE COPY**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



⑮ **BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 199 50 020 A 1**

⑤① Int. Cl.<sup>7</sup>:  
**A 61 K 7/48**

⑳ Aktenzeichen: 199 50 020.7  
㉔ Anmeldetag: 16. 10. 1999  
㉓ Offenlegungstag: 19. 4. 2001

**DE 199 50 020 A 1**

㉑ **Anmelder:**  
Henkel KGaA, 40589 Düsseldorf, DE

㉒ **Erfinder:**  
Sättler, Andrea, Dr., 40225 Düsseldorf, DE; Weiss,  
Albrecht, Dr., 40764 Langenfeld, DE; Schlotmann,  
Kordula, Dr., 40225 Düsseldorf, DE; Förster,  
Thomas, Dr., 40699 Erkrath, DE

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

⑤④ **Verwendung von Zusammensetzungen zur pflegenden Behandlung der Haut**

⑤⑦ Ein vielversprechendes Potential für die topische Behandlung trockener Haut ergibt sich durch Verwendung von Zusammensetzungen, die in einem auf der Haut verteilbaren, physiologisch verträglichen Träger Inhibitoren für die am Desmosomen-Abbau beteiligten Proteinasen enthalten. Die Inhibitoren tragen dazu bei Desquamationsprozesse signifikant zu reduzieren und verbessern auf diese Weise das Erscheinungsbild der Haut. Geeignete Inhibitoren sind beispielsweise Borsäure und deren Derivate, 4-(2-Aminoethyl)phenylsulfonylfluorid (Pefabloc® und Pefabloc® SC), die Pentapeptidsequenz Glycin-Prolin-Phenylalanin-Prolin-Leucin und Derivate, die diese Pentapeptidsequenz enthalten, sowie Rosmariensäure und den aus Leguminosensamen gewonnenen Wirkstoff Elhibin®.

**DE 199 50 020 A 1**

Die Lehre der Erfindung betrifft Zusammensetzungen zur pflegenden Behandlung der Haut, die spezielle bioaktive Komponenten enthalten.

- 5 Hautpflegemittel sind Produkte zur Reinigung und Pflege der Haut, welche die Aufgabe haben, die Haut schonend zu reinigen, geschmeidig zu halten und die Hornschicht der Haut in ihrem natürlichen Regenerationsvermögen zu unterstützen. Da die Haut kein isoliertes Organ ist, sondern mit anderen Gewebeschichten in Funktion und Aufbau verbunden ist, sind die Anforderungen an die Zusammensetzung eines Hautpflegemittels sehr komplex.

- Ein besonderes Anforderungsprofil ergibt sich für Pflegemittel zur Behandlung der trockenen Haut. Hierzu werden  
10 Produkte eingesetzt, die einen hohen Anteil an Pflegekomponenten enthalten, beispielsweise natürliche Fette, Öle, Wachse und verschiedene rückfettende und wasserbindende Bestandteile, die auf die Haut einen glättenden Effekt haben. In jüngster Zeit werden zur Behandlung trockener Haut vermehrt bioaktive Komponenten eingesetzt. Unter dem Begriff werden Substanzen zusammengefaßt, die in Stoffwechselprozesse des Organismus eingreifen, z. B. indem sie relevante Enzyme des Stoffwechsels aktivieren oder inhibieren. Obgleich die Entstehung trockener Haut intensiv untersucht wird  
15 (K. Kitamura, K. Yamada, A. Ito und M. Fukuda J. Soc. Cosm. Chem. Japan 1995, 29 (2), 133–145), ist über die biochemischen Prozesse der trockenen Haut und die daran beteiligten Enzyme bisher nur wenig bekannt.

- Gesunde Haut wird durch ein Fließgleichgewicht, welches die mittlere Schichtdicke der Haut aufrecht erhält, ständig erneuert. Die Zellen der Hornschicht (Stratum corneum) an der Hautoberfläche werden abgeschuppt, während aus dem Stratum basale neue Zellen nachgeliefert werden. Für den Abschuppungsprozeß (Desquamation) müssen die Protein-  
20 strukturen (Desmosomen), die für die Kohäsion der Zellen verantwortlich sind, aufgelöst werden (A. Lundström, T. Egelrud, J. Invest. Dermatol. 1988, 91, 340–343 und 1990, 94, 216–220; idem, Arch. Dermatol. Res. 1990, 282, 234–237). Der Abbau der Desmosomen erfolgt über im Stratum corneum enthaltene Proteasen, von denen zwei näher charakterisiert wurden. Es handelt sich hierbei um Serin-Proteasen vom Chymotrypsin- und Trypsin-Typ (T. Egelrud et al., Acta Derm. Venereol. 1991, 71, 471–474; JP 8068791 A2).

- Trockene Haut zeichnet sich durch vermehrte Desmosomenstrukturen in den obersten Schichten des Stratum corneum (EP 0633765) und auch durch eine verstärkte Abschuppung von Keratinozyten in der Epidermis aus. Zur Behandlung der trockenen Haut wurden daher beispielsweise Proteasen als bioaktive Komponenten in Hautpflegemitteln verwendet, welche die vermehrten Desmosomenstrukturen schneller abbauen (WO 95/07688, EP 0 633 765, EP 0 719 132, EP 0 719 133, EP 0 719 134). Auch der Einsatz von Dicarbonsäuren führt zu einem beschleunigten Abbau der Desmo-  
30 somenstrukturen (JP 10175844).

- Protease-Inhibitoren werden dagegen zur Behandlung von Hauterkrankungen und bei krankhaft beschleunigter Bildung von Zellen der Epidermis eingesetzt (JP 9025212, JP 9025214, US 5290762, EP 0 532 465). Der Protease-Inhibitor trans-4-(Aminomethyl)-cyclohexancarbonsäure (Tranexamsäure, t-AMCHA; vgl. JP 9175986) hemmt den sogenannten tissue-type-Plasminogen-Aktivator (t-PA), eine Protease, die an der Fibrinolyse beteiligt ist und nur dann in der Oberhaut  
35 vorkommt, wenn bereits ein entzündliches Hautbild vorliegt (J. Koyama et al., "The mechanism of desquamation in the stratum corneum and its relevance to skin care", Symposium paper No. 9, 19<sup>th</sup> IFSCC Congress, Sidney 1996).

- Die derzeit eingesetzten Komponenten in Pflegemitteln zur Behandlung der trockenen Haut können die Stoffwechselprozesse noch nicht zufriedenstellend beeinflussen. Beispielsweise hemmen zahlreiche Wirkstoffe nicht spezifisch die an der Abschuppungsreaktion beteiligten Proteasen. Aufgabe war es, die Abschuppung der Keratinozyten durch gezielt wirkende bioaktive Komponenten zu reduzieren, welche die am Desmosomenabbau beteiligten Proteasen hemmen, und auf  
40 diese Weise ein deutlich verbessertes Hautbild zu erreichen.

- Überraschenderweise wurde nun eine Gruppe von Inhibitoren gefunden, welche die an der Abschuppungsreaktion der Haut beteiligten Proteasen hemmen und die Keratinozyten länger im Zellverbund halten. Als bioaktive Komponenten in Hautpflegemitteln reduzieren sie den bei trockener Haut abnorm verstärkten Abschuppungsprozeß und normalisieren so  
45 das Erscheinungsbild der Haut. Ebenso wird bei gereizter und aus diesem Grund stark abschuppender Haut ein Hautschutz erreicht.

- Gegenstand der Erfindung ist daher die Verwendung einer Zusammensetzung, die in einem auf der Haut verteilbaren, physiologisch verträglichen Träger mindestens einen Inhibitor für die am Desmosomen-Abbau beteiligten Proteinase, enthält zur Hemmung des Abbaus von Desmosomenstrukturen bei topischer prophylaktischer und/oder kosmetischer  
50 Behandlung trockener Haut. Wasserlösliche Inhibitoren mit einem Molekulargewicht kleiner als 5000 g/mol können im Sinne der Erfindung bevorzugt sein, wobei unter Wasserlöslichkeit eine minimale Löslichkeit des Inhibitors von 0,001 Gew.-% in Wasser bei 25°C verstanden wird. Unter Inhibition oder Hemmung im Sinne der Erfindung wird die Aktivitätsabnahme (Definition der Enzymaktivität, vgl. Stichwort "Enzyme" in: CD Römpf Chemie Lexikon, Version 1.0, Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag 1995) des entsprechenden, aus der Haut isolierten Enzyms oder eines geeig-  
55 neten Modellenzym in Anwesenheit des Inhibitors oder eines Gemisches von Inhibitoren im in-vitro-Test und/oder die verminderte Abschuppung von Keratinozyten an Hautbiopsien in Anwesenheit des Inhibitors oder eines Gemisches von Inhibitoren verstanden. Der Inhibitor oder das Gemisch von Inhibitoren kann in einer Konzentration von 0,001–20,0 Gew.-%, vorzugsweise 0,1–5 Gew.-% in den Zusammensetzungen enthalten sein. Der physiologisch verträgliche Träger kann beispielsweise eine O/W oder eine W/O-Emulsion, eine Gel-Grundlage oder eine geeignete wässrige  
60 oder alkoholische Lösung sein.

- Die Verwendung einer Zusammensetzung, die dadurch gekennzeichnet ist, daß mindestens ein Inhibitor enthalten ist, der die am Desmosomen-Abbau beteiligten Serin-Proteinase hemmt, ist bevorzugt. Diese Proteinase enthalten im aktiven Zentrum einen für die Katalyse essentiellen L-Serin-Rest. Als Inhibitoren im Sinne der Erfindung eignen sich Substanzen, die den L-Serin-Rest modifizieren und/oder die Substratspaltungsstelle durch Wechselwirkung mit dem L-Serin-Rest bzw. mit Aminosäuren aus der Umgebung blockieren und/oder über die Änderung der Tertiärstruktur des Enzyms dessen Inaktivierung bewirken. Als Hemmwirkung im Sinne der Erfindung wird, wie bereits für den allgemeinen Fall erläutert, eine Aktivitätsabnahme der Serin-Proteinase in Anwesenheit des Inhibitors im in-vitro-Test und/oder die verminderte Abschuppung von Keratinozyten an Hautbiopsien in Anwesenheit des Inhibitors bezeichnet.  
65

Besonders bevorzugt weiterhin die Verwendung einer Zusammensetzung, die dadurch gekennzeichnet ist, daß mindestens ein Inhibitor enthalten ist, der die am Desmosomen-Abbau beteiligten Trypsin- oder Chymotrypsin-ähnlichen Serin-Proteinasen hemmt. Trypsin ist eine Endopeptidase, die im Dünndarm aus der vom Pankreas gebildeten Vorstufe Trypsinogen durch Abspaltung eines Hexapeptids entsteht. Kennzeichnend für diese Serin-Proteinase ist ein negativ geladener L-Aspartat-Rest in der Substrat-Bindungstasche, der die Spezifität des Enzyms mitbestimmt. Trypsin spaltet Peptidketten spezifisch auf der Carboxy-Seite der basischen Aminosäuren L-Lysin und L-Arginin. Chymotrypsin entsteht im Pankreas aus inaktiven Vorstufen, sogenannten Zymogenen, durch Einwirkung von Trypsin. Chymotrypsin spaltet Proteine, Peptide, Aminosäureester und Amide spezifisch an der Carboxy-Gruppe hydrophober Aminosäuren. Beide Enzym-Typen sind am Abbau von Proteinstrukturen (Desmosomen) beteiligt, welche für die Kohäsion der Hornzellen in der Haut verantwortlich sind. Als Hemmwirkung im Sinne der Erfindung wird, wie bereits für den allgemeinen Fall erläutert, eine Aktivitätsabnahme der Trypsin- oder Chymotrypsin-ähnlichen Serin-Proteinasen in Anwesenheit des Inhibitors im in-vitro-Test und/oder die verminderte Abschuppung von Keratinozyten an Hautbiopsien in Anwesenheit des Inhibitors bezeichnet.

Die erfindungsgemäße Verwendung einer Zusammensetzung, die dadurch gekennzeichnet ist, daß als Inhibitor Borsäure oder deren Derivate enthalten sind, ist besonders bevorzugt (Beispiele 1 und 2). Zu den erfindungsgemäß verwendbaren Derivaten gehören Ester und Salze der Borsäure sowie C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>-Alkyl- oder Aryl-substituierte Borsäure-Derivate, wie beispielsweise Phenylboronsäure und/oder deren Mono- oder Diester mit C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>-Alkylresten. Die Verwendung von Borsäureacetat oder Phenylboronsäureacetat kann im Sinne der Erfindung bevorzugt sein. Borsäure und Phenylboronsäure wirken schwach antiseptisch. In enzymhaltigen Waschmitteln ist Phenylboronsäure als Inhibitor für proteolytische Enzyme bekannt, um deren Lagerstabilität zu erhöhen. Die Verwendung von Phenylboronsäure, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>B(OH)<sub>2</sub>, als Aktivitätsregulator für α-Chymotrypsin in Gewebekulturen wurde in JP 08157800 gelehrt. Insbesondere Phenylboronsäure erwies sich im in-vitro-Test (Beispiel 1) in sehr geringen Konzentrationen (0,1%) als äußerst wirkungsvoller Inhibitor von Chymotrypsin, einem Enzym, das am Desmosomenabbau beteiligt ist. Auch im Abschuppungstest an Haut-Biopsien erwiesen sich Borsäure und Phenylboronsäure (Beispiele 7 und 8) als Inhibitoren und sind daher zur Hemmung des Abbaus von Desmosomenstrukturen bei topischer Behandlung der trockenen Haut besonders geeignet.

Ebenso bevorzugt ist die erfindungsgemäße Verwendung einer Zusammensetzung, die dadurch gekennzeichnet ist, daß als Inhibitor 4-(2-Aminoethyl)phenylsulfonylfluorid enthalten ist. Zwei Ausführungsformen dieses Inhibitors sind unter dem Handelsnamen Pefabloc® und Pefabloc® SC bekannt. Die Substanz wird als nicht-toxischer, irreversibler und effektiver Inhibitor von Serin-Proteasen beschrieben (C. Dentan et al., Biochimica et Biophysica Acta, 1996, 1299, 353-357). Insbesondere wegen seiner geringen Toxizität ist 4-(2-Aminoethyl)phenylsulfonylfluorid zur Hemmung des Abbaus von Desmosomen-Strukturen in trockener Haut geeignet. Eine signifikante Hemmung von Trypsin und Chymotrypsin wurde in in-vitro-Tests bereits mit 0,02 bzw. 0,05% des Inhibitors beobachtet, eine nahezu vollständige Hemmung tritt bei Verwendung von 0,5% ein (Beispiel 3). Dies entspricht dem Ergebnis des Desquamationstest an Hautbiopsien, bei dem 0,5% des Inhibitors die Abschuppung der Korneozyten um ca. 90% reduziert (Beispiel 9).

Bevorzugt ist auch die erfindungsgemäße Verwendung einer Zusammensetzung, die als Inhibitor das Pentapeptid Glycin-Prolin-Phenylalanin-Prolin-Leucin (GPFPL) oder ein Derivat davon enthält. Das Pentapeptid ist als Inhibitor für Serin-Proteinasen bekannt. Beansprucht im Sinne der erfindungsgemäßen Verwendung sind u. a. endgruppengeschützte Derivate dieser Pentapeptidsequenz, Polypeptide, Proteine und andere chemische Derivate, die diese Pentapeptidsequenz enthalten, die eine inhibitorische Wirkung in den umseitig beschriebenen Tests aufweisen. Eine deutliche Hemmung von Chymotrypsin (27%) wurde in in-vitro-Tests bei Verwendung von 0,33 Gew.-% N-CBZ-Gly-Pro-Phe-Pro-Leu (N-CBZ=N-Benzoyloxycarbonyl) beobachtet (Beispiel 4). Bei Verwendung von 0,5% N-CBZ-GPFPL kann die Desquamation der Haut um die Hälfte reduziert werden (Beispiel 10).

Bevorzugt ist auch die erfindungsgemäße Verwendung einer Zusammensetzung, die als Inhibitor Rosmarinsäure enthält. Rosmarinsäure ist für seine entzündungshemmende, cytotatische und antivirale Wirkung bekannt. In der Kosmetik werden Rosmarinextrakte als Badezusatz und als Additiv in Haarpflegeprodukten eingesetzt. In Hautpflegeprodukten werden Rosmarinextrakte zusammen mit anderen Wirkstoffen als synergistisch wirkende Antioxidantien-Kombination eingesetzt. Zu den erfindungsgemäß verwendbaren Derivaten gehören Ester und Salze der Rosmarinsäure sowie C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>-Alkyl- oder Arylester. Eine nahezu vollständige Hemmung von Trypsin wurde in in-vitro-Tests bei Verwendung von 0,05% Rosmarinsäure beobachtet (Beispiel 5). Bei Verwendung von 1,0% Rosmarinsäure kann die Desquamation der Haut um nahezu 70% reduziert werden (Beispiel 11).

Bevorzugt ist auch die erfindungsgemäße Verwendung einer Zusammensetzung, die als Inhibitor das aus Leguminosensamen nach einem besonderen Verfahren gewonnene Elhibin® (Pentapharm AG) enthält. Elhibin® hemmt Leukozytenelastase und Fibroblastenelastase, die an Entzündungs- und Alterungsprozessen der Haut beteiligt sind. Der Wirkstoff wird in Hautkosmetika eingesetzt, um das generelle Aussehen der Haut zu verbessern. Im in-vitro-Tests hemmt Elhibin® bereits in einer Konzentration von 0,5% sowohl Trypsin als auch Chymotrypsin nahezu vollständig (Beispiel 6). Im Desquamationstest an Hautbiopsien wird die Abschuppung der Korneozyten bei Verwendung von 1,0% Elhibin® um mehr als 90% reduziert (Beispiel 12).

#### Physiologisch verträgliche Träger

Die Inhibitor-Wirkstoffe sind in den für kosmetische Rezepturen üblichen, physiologisch verträglichen Trägern enthalten. Neben Wasser und physiologisch geeigneten Lösungsmitteln können u. a. pflegende Bestandteile, Öle, Wachse, Fette, rückfettende Substanzen, Verdickungsmittel, Emulgatoren, als Sonnenschutzfilter geeignete Substanzen und Duftstoffe enthalten sein. Die Zusammensetzung kann je nach Anforderung als wäßrige oder alkoholische Lösung, als Gel, Öl, W/O- oder O/W-Emulsion formuliert werden. Im Sinne der Erfindung können die Inhibitoren auch in Körperreinigungsmitteln wie z. B. Seifen, Shampoos, Duschbädern u. ä. verwendet werden, da sie die durch Detergentien induzierte Abschuppung reduzieren. Für geeignete Formulierungs-Grundlagen sei an dieser Stelle auf die in der Kosmetik üblichen Rezepturen verwiesen (K. Schrader, Grundlagen und Rezepturen der Kosmetika, 2. Aufl., Hüthig Buch Verlag, Heidel-

## Pflegerische Wirkstoffe

- 5 Für die erfindungsgemäße Verwendung der Zusammensetzung zur topischen, prophylaktischen und/oder kosmetischen Behandlung der trockenen Haut kann ein hoher Anteil an pflegenden Substanzen vorteilhaft sein. Gemäß einer bevorzugten Verwendungsform enthalten die Zusammensetzungen neben den in vielen Fällen ebenfalls Pflegewirkung aufweisenden tierischen und/oder pflanzlichen Fetten und Ölen noch weitere Pflegekomponenten. Dem Fachmann ist eine Vielzahl pflegender Wirkstoffe bekannt, die für diesen Zweck verwendet werden können. Hierzu zählen unter anderem:

10

## Fettalkohole mit 8 bis 22 C-Atomen

- Die eingesetzten Fettalkohole können gesättigt oder ungesättigt und linear oder verzweigt sein. Einsetzbar im Sinne der Erfindung sind beispielsweise Decanol, Octanol, Octenol, Dodecenol, Decenol, Octadienol, Dodecadienol, Decadienol, Oleylalkohol, Erucaalkohol, Ricinolalkohol, Stearylalkohol, Isostearylalkohol, Cetylalkohol, Laurylalkohol, Myristylalkohol, Arachidylalkohol, Caprylalkohol, Caprinalkohol, Linoleylalkohol, Linolenylalkohol und Behenylalkohol, sowie deren Guerbetalkohole, wobei diese Aufzählung beispielhaften und nicht limitierenden Charakter haben soll. Die Fettalkohole stammen bevorzugt von natürlichen Fettsäuren ab, wobei üblicherweise von einer Gewinnung aus den Estern der Fettsäuren durch Reduktion ausgegangen werden kann. Erfindungsgemäß einsetzbar sind ebenfalls Fettalkoholschnitte, die durch Reduktion natürlich vorkommender Fette und Öle, wie z. B. Rindertalg, Erdnußöl, Rüböl, Baumwollsaatöl, Sojaöl, Sonnenblumenöl, Palmkernöl, Leinöl, Rizinusöl, Maisöl, Rapsöl, Sesamöl, Kakaobutter und Kokosfett entstehen.

25

## Tierische und pflanzliche Proteinhydrolysate

Hierzu zählen insbesondere Elastin-, Kollagen-, Keratin-, Milcheiweiß-, Sojaprotein-, Seidenprotein-, Haferprotein-, Erbsenprotein-, Mandelprotein- und Weizenproteinhydrolysate, deren Kondensationsprodukte mit Fettsäuren sowie quaternisierte Proteinhydrolysate

30

– Vitamin und Vitaminvorstufen wie Tocopherole, Vitamin A, Niacinsäure und Niacinsäureamid, weitere Vitamine des B-Komplexes, Vitamin F und insbesondere Biotin. Weiterhin bevorzugt innerhalb dieser Gruppe von pflegenden Wirkstoffen sind Panthenol, dessen Derivate, insbesondere die Ester und Ether des Panthenols sowie kationisch derivatisierte Panthenole. Einzelne Vertreter sind beispielsweise das Panthenoltriacetat, der Panthenolmonoethylether und dessen Monoacetat sowie kationische Panthenolderivate.

35

– Mono-, Di- und Oligosaccharide wie beispielsweise Glucose, Galactose, Fructose, Mannose, Fruchtzucker und Lactose.

40

– Pflanzenextrakte, die üblicherweise durch Extraktion der gesamten Pflanze, in einzelnen Fällen aber auch ausschließlich aus Blüten und/oder Blättern der Pflanze, hergestellt werden. Hinsichtlich der erfindungsgemäß verwendbaren Pflanzenextrakte wird insbesondere auf die Extrakte hingewiesen, die in der auf Seite 44 der 3. Auflage des Leitfadens zur Inhaltsstoffdeklaration kosmetischer Mittel, herausgegeben vom Industrieverband Körperpflege- und Waschmittel e. V. (IKW), Frankfurt, beginnenden Tabelle aufgeführt sind. Erfindungsgemäß sind vor allem die Extrakte aus Eichenrinden, Brennessel, Hamamelis, Hopfen, Kamille, Klettenwurzel, Schachtelhalm, Weißdorn, Lindenblüten, Mandel, Aloe Vera, Fichtennadel, Roßkastanie, Sandelholz, Wacholder, Kokosnuß, Mango, Aprikose, Limone, Weizen, Kiwi, Melone, Orange, Grapefruit, Salbei, Rosmann, Birke, Malve, Wiesenschaukraut, Quendel, Schafgarbe, Thymian, Melisse, Hauhechel, Huflattich, Eibisch, Meristem, Ginseng und Ingwerwurzel bevorzugt. Besonders bevorzugt sind die Extrakte aus Mandel, Aloe Vera, Kokosnuß, Mango, Aprikose, Limone, Weizen, Kiwi und Melone. Es können in den erfindungsgemäßen Mitteln auch Mischungen aus mehreren, insbesondere aus zwei, verschiedenen Pflanzenextrakten enthalten sein.

45

50

Als Extraktionsmittel zur Herstellung der genannten Pflanzenextrakte können u. a. Wasser, Alkohole sowie deren Mischungen verwendet werden. Unter den Alkoholen sind dabei niedere Alkohole wie Ethanol und Isopropanol, insbesondere aber mehrwertige Alkohole wie Ethylenglykol, Propylenglykol und Butylenglykol sowohl als alleiniges Extraktionsmittel als auch in Mischung mit Wasser, bevorzugt.

Die Pflanzenextrakte können erfindungsgemäß sowohl in reiner als auch in verdünnter Form eingesetzt werden.

55

– Honigextrakte, die in analoger Weise zu den Pflanzenextrakten gewonnen werden und üblicherweise 1–10 Gew.-%, insbesondere 3–5 Gew.-%, Aktivsubstanz enthalten.

– Ceramide

– Phospholipide, beispielsweise Sojalecithin, Ei-Lecithin und Kephaleine,

60

– Paraffin- und Silikonöle; zu letzteren zählen u. a. Dialkyl- und Alkylarylsiloxane, wie beispielsweise Dimethylpolysiloxan und Methylphenylpolysiloxan, sowie deren alkoxylierte und quaternierte Analoga.

65

– Fettsäure- und Fettalkoholester, insbesondere die Monoester der Fettsäuren mit Alkoholen mit 3 bis 24 C-Atomen. Bei dieser Stoffgruppe handelt es sich um die Produkte der Veresterung von Fettsäuren mit 8 bis 24 C-Atomen wie beispielsweise Capronsäure, Caprylsäure, 2-Ethylhexansäure, Caprinsäure, Laurinsäure, Isotridecansäure, Myristinsäure, Palmitinsäure, Palmoleinsäure, Stearinsäure, Isostearinsäure, Ölsäure, Elaidinsäure, Petroselininsäure, Linolsäure, Linolensäure, Elaeostearinsäure, Arachinsäure, Gadoleinsäure, Behensäure und Erucasäure sowie deren technische Mischungen, die z. B. bei der Druckspaltung von natürlichen Fetten und Ölen, bei der Reduktion von Aldehyden aus der Roelen'schen Oxosynthese oder der Dimerisierung von ungesättigten Fettsäuren anfallen, mit

Alkoholen wie beispielsweise Isopropylalkohol, Capronalkohol, Caprylalkohol, Nonylhexylalkohol, Caprinalkohol, Laurylalkohol, Isotridecylalkohol, Myristylalkohol, Cetylalkohol, Palmoleylalkohol, Stearylalkohol, Isostearylalkohol, Oleylalkohol, Elaidylalkohol, Petroselinylalkohol, Linolylalkohol, Linolenylalkohol, Elaeostearylalkohol, Arachylalkohol, Gadoleylalkohol, Behenylalkohol, Erucylalkohol und Brassidylalkohol sowie deren technische Mischungen, die z. B. bei der Hochdruckhydrierung von technischen Methylestern auf Basis von Fetten und Ölen oder Aldehyden aus der Roelen'schen Oxosynthese sowie als Monomerfraktion bei der Dimerisierung von ungesättigten Fettalkoholen anfallen.

## Überprüfung der inhibitorischen Wirkung

Die hemmende Wirkung der Protease-Inhibitoren wurde sowohl in vitro an geeigneten Modellenzymen als auch an Biopsien menschlicher Haut nachgewiesen.

### 1. Inhibitorische Wirkung auf eine Serin-Protease (in vitro)

Da die hauteigenen, am Desmosomenabbau beteiligten Proteasen nicht in ausreichender Menge zur Verfügung standen, dienten die Serin-Proteasen Trypsin und Chymotrypsin (Sigma) aus Rinderpankreas als Modellenzym, um die Hemmwirkung der erfindungsgemäß verwendeten Inhibitoren Phenylboronsäure, Borsäure, N-CBZ-Gly-Pro-Phe-Pro-Leu, Pefabloc® und Pefabloc® SC (Boehringer Mannheim), Rosmarinsäure und Elhibin® zu testen. Als Referenz wurde das als t-PA-Inhibitor (tissue-type plasminogen activator) bekannte t-AMCHA [trans-4(Aminomethyl)-cyclohexancarbonsäure] verwendet.

### Durchführung

Der Nachweis der Chymotrypsin-Enzymaktivität erfolgt mit einer Modifikation analog zu den Angaben im Sigma Quality Control Test Procedure-Datenblatt für Chymotrypsin. Bei Ansätzen ohne Inhibitor wurden 1,42 mL Reagens A (80 mM Tris/HCl-Puffer, pH = 7,8; 25°C) zum Testansatz zugegeben. Bei Ansätzen mit Inhibitor wurden 1,32 mL Reagens A zum Testansatz zugegeben sowie 0,1 mL einer Lösung des entsprechenden Inhibitors in Reagens A (Konzentrationsreihe). Die Enzymaktivität wurde durch Umsetzung des Substrates N-Benzoyl-L-Tyrosinethylester (BTEE) zu N-Benzoyl-L-Tyrosin und Ethanol spektrophotometrisch bestimmt. Die Absorption des proteolytisch abgespaltenen N-Benzoyl-L-Tyrosins wurde bei 256 nm gemessen.

Auch der Nachweis der Trypsin-Enzymaktivität erfolgt mit einer Modifikation analog zu den Angaben im Sigma Quality Control Test Procedure-Datenblatt für Trypsin. Anstelle von Aprotinin (Reagens F) wurden hier die erfindungsgemäßen Inhibitoren eingesetzt.

Hierfür wurde eine Konzentrationsreihe der Inhibitoren in Reagens E angesetzt. Die Enzymaktivität wurde durch Umsetzung des Substrates N $\alpha$ -Benzoyl-DL-Arginin-p-Nitroanilin (BAPNA) zu N $\alpha$ -Benzoyl-DL-Arginin und p-Nitroanilin spektrophotometrisch bestimmt. Die Absorption des proteolytisch abgespaltenen p-Nitroanilins wurde bei 405 nm gemessen.

Die Reaktionskinetiken wurden je 5 Minuten bei 25°C detektiert, wobei der lineare Anstieg der Absorption (A) pro Zeiteinheit (t) ein Maß für die Aktivität des Enzyms ( $\Delta A/\Delta t$ ) ist. Die Aktivität des Enzyms in Abwesenheit eines Proteinase-Inhibitors, ( $\Delta A_1/\Delta t_1$ ), wurde auf 100% gesetzt. Unter analogen Bedingungen wurden die Aktivitäten in Gegenwart eines Inhibitors ( $\Delta A_2/\Delta t_2$ ) bestimmt. Die Hemmwirkung oder Minderung der Enzymaktivität entspricht dann:  $100\% - (\Delta A_2/\Delta t_2)/(\Delta A_1/\Delta t_1)\%$ .

## Beispiel 1

## Phenylboronsäure als Inhibitor im Enzymtest

Phenylboronsäure-Konzentration (w/v)	Hemmwirkung (Minderung der Trypsin-Aktivität)	Hemmwirkung (Minderung der Chymotrypsin-Aktivität)
0 %	0 %	0 %
0,001 %	Keine Hemmung meßbar	keine Hemmung meßbar
0,005 %	Keine Hemmung meßbar	nicht getestet
0,01 %	Keine Hemmung meßbar	9 %
0,05 %	5 %	45 %
0,1 %	22 %	92 %

\*: weight per volume

Durch Phenylboronsäure wird die Aktivität von Trypsin im gewählten Konzentrationsbereich nur mäßig beeinträchtigt. Hingegen wird eine deutliche, konzentrationsabhängige Hemmung von Chymotrypsin beobachtet.

## Beispiel 2

## Borsäure als Inhibitor im Enzymtest

Borsäure-Konzentration (w/v)	Hemmwirkung (Minderung der Trypsin-Aktivität)	Hemmwirkung (Minderung der Chymotrypsin-Aktivität)
0 %	0 %	0 %
0,001 %	Keine Hemmwirkung meßbar	keine Hemmwirkung meßbar
0,01 %	Keine Hemmwirkung meßbar	keine Hemmwirkung meßbar
0,1 %	6 %	23 %
0,5 %	23 %	nicht getestet

\*: weight per volume

Die Hemmwirkung von Borsäure auf Trypsin und Chymotrypsin ist im getesteten Konzentrationsbereich nur schwach. Chymotrypsin wird bei geringerer Borsäure-Konzentration stärker gehemmt als Trypsin.



## Beispiel 3

4-(2-Aminoethyl)phenylsulfonylfluorid (Pefabloc® SC) als Inhibitor im Enzymtest

Pefabloc® SC-Konzentration	Hemmwirkung (Minderung der Trypsin-Aktivität)	Hemmwirkung (Minderung der Chymotrypsin-Aktivität)
0 %	0 %	0 %
0,0005 %	8 %	nicht getestet
0,001 %	nicht getestet	2 %
0,005 %	54 %	13 %
0,01 %	74 %	29 %
0,02 %	95 %	nicht getestet
0,025 %	nicht getestet	54 %
0,04 %	100 %	nicht getestet
0,05 %	nicht getestet	73 %

\*: weight per volume

Pefabloc® SC zeigt im getesteten Konzentrationsbereich eine starke, konzentrationsabhängige Hemmung von Trypsin und Chymotrypsin.

## Beispiel 4

Pentapeptidsequenz GPFPL als Inhibitor im Enzymtest

N-CBZ-GPFPL-Konzentration (w/v)	Hemmwirkung (Minderung der Trypsin-Aktivität)	Hemmwirkung (Minderung der Chymotrypsin-Aktivität)
0,03 %	keine Hemmwirkung messbar	2 %
0,06 %	- " -	7 %
0,33 %	- " -	27 %

\*: weight per volume

Die Trypsin-Aktivität wird durch GPFPL im gewählten Konzentrationsbereich nicht beeinträchtigt. Bei einer Konzentration des Inhibitors von 0,33 Gew.-% wird eine spezifische Hemmung (27%) von Chymotrypsin nachgewiesen.

## Rosmarinsäure als Inhibitor im Enzymtest

Rosmarinsäure-Konzentration (w/v)	Hemmwirkung (Minderung der Trypsin-Aktivität)	Hemmwirkung (Minderung der Chymotrypsin-Aktivität)
0 %	0 %	0 %
0,001 %	nicht getestet	keine Hemmwirkung messbar
0,005 %	nicht getestet	2 %
0,0075 %	nicht getestet	7 %
0,01 %	61 %	nicht getestet**
0,05 %	95 %	nicht getestet**

\* : weight per volume

\*\* = wegen Verfärbung der Lösungen durch Rosmarinsäure konnten diese Konzentrationen nicht getestet werden.

- 25 Rosmarinsäure zeigt eine starke, konzentrationsabhängige Hemmung von Trypsin. Die Hemmung von Chymotrypsin ist bei den untersuchbaren, niedrigen Inhibitor-Konzentrationen gering.

## Beispiel 6

## Elhibin® als Inhibitor im Enzymtest

Elhibin®-Konzentration (v/v)	Hemmwirkung (Minderung der Trypsin-Aktivität)	Hemmwirkung (Minderung der Chymotrypsin-Aktivität)
0 %	0 %	0 %
0,01 %	8 %	7 %
0,05 %	39 %	30 %
0,1 %	76 %	55 %
0,5 %	98 %	92 %
1,0 %	nicht getestet	97 %

\* : volume per volume

- 50 Sowohl Trypsin als auch Chymotrypsin werden durch Elhibin® gleichermaßen stark im getesteten Konzentrationsbereich gehemmt.

## Bewertung der Tests

- 55 Eine spezifische Hemmung der Chymotrypsin-Aktivität wurde für niedrige Konzentrationen des Pentapeptids GPFPL beobachtet. Borsäure zeigt im getesteten Konzentrationsbereich eine schwache Hemmung beider Enzyme, Phenylboronsäure zeigt bereits in geringer Konzentration (0,1%) eine schwache Hemmung von Trypsin und eine starke Hemmung von Chymotrypsin. Eine nahezu vollständige Hemmung beider Enzyme tritt auch mit Elhibin® (0,5%) ein. Geringe Konzentrationen Rosmarinsäure (0,05%) sind ein äußerst effektiver Inhibitor für Trypsin. Als effektiver Inhibitor beider Enzyme hat sich auch Pefabloc® erwiesen, wobei im untersuchten Konzentrationsbereich Trypsin stärker gehemmt wird als Chymotrypsin.

## 2. Tests der Inhibitoren an Haut-Biopsien

- 65 Der Einfluß der Protease-Inhibitoren Phenylboronsäure, Borsäure, des Pentapeptids N-CBZ-Gly-Pro-Phe-Pro-Leu, Rosmarinsäure und Elhibin® auf die Desquamation des Stratum corneum wurde an Haut-Biopsien untersucht. Aus frischen Humanhautexplantaten (aus Mammareduktion) wurden 8 mm<sup>2</sup>-große Hautstücke ausgestanzt und mit ei-

ner Mischung aus Detergentien (Na-Dodecylsulfat, N,N-Dimethyldodecylaminoxid) in Abwesenheit und in Gegenwart der Inhibitoren behandelt. Unter dem Einfluß der Detergentien wird eine verstärkte Abschuppung (Desquamation) der Hornschicht (Stratum corneum) künstlich induziert, also die Ausbildung trockener Haut im Versuch nachgeahmt. Die Anzahl abgeschuppter Hornzellen (Korneozyten) wurde unter dem Mikroskop in einer Schilling-Zählkammer bestimmt. Eine Verringerung der Korneozytenzahl weist auf eine hemmende Wirkung der getesteten potentiellen Inhibitoren hin.

#### Durchführung

Die Inhibitoren wurden in den entsprechenden Konzentrationen (vgl. Tabellen der Beispiele 7-12) im Inkubationspuffer angesetzt. Dieser bestand aus 0,1 M TRIS-HCl-Puffer (pH 8) mit 0,1 Gew.-% Na-Azid und den Detergenzien Na-Dodecylsulfat (0,2 mM) und N,N-Dimethyldodecylaminoxid (8 mM) sowie EDTA (5 mM). Diese Inkubationspufferlösungen mit variierender Konzentration des Inhibitors werden nachfolgend als Testlösungen bezeichnet.

Es wurden zwei Arten von Blindkontrollen durchgeführt, eine Positiv- und eine Negativkontrolle. Für die sogenannte Positivkontrolle wurde nur der Inkubationspuffer verwendet, d. h. ohne Zusatz der Inhibitoren. Für die sogenannte Negativkontrolle wurde eine 5 mM Lösung von EDTA in TRIS-HCl-Puffer eingesetzt, d. h. ohne Zusatz der Detergentien.

Pro Reaktionsansatz wurden 0,5 mL der jeweiligen Testlösung oder des für die Blindkontrollen verwendeten Puffergemisches in verschließbaren Reaktionsgefäßen vorgelegt. Alle Ansätze wurden in vierfacher Ausfertigung durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten.

Die Humanhaut wurde nach der Explantation in einer trockenen, sterilen Petrischale auf Kühlakku transportiert. Nach Entfernung des Unterhautfett- und des Bindegewebes wurden mit Hilfe von sterilen Stanzen 8 mm<sup>2</sup>-große Hautstücke präpariert. Diese wurden 15-20 min in steriler, physiologischer NaCl (0,9%) gewaschen, zu den Reaktionsansätzen gegeben (1 Hautstück/Reaktionsansatz) und 44 Stunden bei 37°C inkubiert.

Nach Beendigung der Inkubationsphase wurden die Reaktionsgefäße 30 Sekunden auf einem Vortex-Mixer geschüttelt, um noch lose anhaftende Korneozyten von den Hautstücken abzulösen. Die Hautstücke wurden entnommen und die verbleibende Dispersion wurde 8 Minuten bei 11.000 U/min zentrifugiert, um die Korneozyten zu isolieren. Der detergentenhaltige Überstand (0,4 mL) wurde verworfen und der Rückstand mit 0,4 ml Aqua dest. gewaschen. Nach nochmaligem Zentrifugieren wurde der Überstand (0,4 mL) wiederum verworfen, das verbleibende Zellpellet in 0,4 mL Aqua dest. aufgenommen und die abgelösten Korneozyten in einer Schillingzählkammer unter einem Lichtmikroskop ausgezählt.

Nachfolgende Tabellen geben eine Zusammenstellung über die Anzahl abgelöster Korneozyten:

- nach Behandlung der Haut-Biopsien mit einem Detergentiengemisch in Abwesenheit der Inhibitoren (Positivkontrolle)
- nach Behandlung der Haut-Biopsien mit einer Pufferlösung in Abwesenheit der Detergentien und Inhibitoren (Negativkontrolle)
- nach Behandlung der Haut-Biopsien mit einem Detergentiengemisch, welches die Inhibitoren in variierender Konzentration enthält.

#### Beispiel 7

##### Phenylboronsäure als Inhibitor im Desquamationstest

Phenylboronsäure wurde in verschiedenen Konzentrationen als Desquamationsinhibitor getestet. Der Korneozytenwert der Positivkontrolle wurde auf 100% gesetzt.

Ansatz	Desquamation an Humanhaut ex vivo
Positivkontrolle	100 %
Negativkontrolle	1,4 %
Phenylboronsäure 0,05 %	89,0 %
Phenylboronsäure 0,1 %	60,0 %

: weight per volume

In einer Konzentration von 0,1% kann Phenylboronsäure die Abschuppung der Korneozyten signifikant reduzieren.

#### Beispiel 8

##### Borsäure als Inhibitor im Desquamationstest

Borsäure wurde in verschiedenen Konzentrationen als Desquamationsinhibitor getestet. Der Korneozytenwert der Positivkontrolle wurde auf 100% gesetzt.

Ansatz	Desquamation an Humanhaut ex vivo
Positivkontrolle	100 %
Negativkontrolle	0 %
Borsäure 0,01 %	86 %
Borsäure 0,1 %	50 %
Borsäure 0,2 %	47 %

: weight per volume

In einer Konzentration von 0,2% vermag Borsäure die Abschuppung der Korneozyten zu halbieren.

## Beispiel 9

## Pefabloc® SC als Inhibitor im Desquamationstest

4-(2-Aminoethyl)phenylsulfonylfluorid (Pefabloc® SC) wurde in verschiedenen Konzentrationen als Desquamationsinhibitor getestet. Der Korneozytenwert der Positivkontrolle wurde auf 100% gesetzt.

Ansatz	Desquamation an Humanhaut ex vivo
Positivkontrolle	100 %
Negativkontrolle	3 %
0,1 % Pefabloc®	34 %
0,5 % Pefabloc®	11 %

: weight per volume

Bei Verwendung von 0,5% Pefabloc® SC wird die Abschuppung um nahezu 90% reduziert.

## Beispiel 10

## Z-GPFPL als Inhibitor im Desquamationstest

Das Pentapeptid N-CBZ-Gly-Pro-Phe-Pro-Leu (GPFPL) wurde in verschiedenen Konzentrationen als Desquamationsinhibitor getestet. Der Korneozytenwert der Positivkontrolle wurde auf 100% gesetzt.

Ansatz	Desquamation an Humanhaut ex vivo
Positivkontrolle	100 %
Negativkontrolle	1 %
0,1 % Z-GPFPL	93 %
0,5 % Z-GPFPL	51 %

: weight per volume

Bei Verwendung von 0,5% des Pentapeptids wird die Abschuppung um die Hälfte reduziert.

## Beispiel 11

## Rosmarinsäure als Inhibitor im Desquamationstest

Rosmarinsäure wurde in verschiedenen Konzentrationen als Desquamationsinhibitor getestet. Der Korneozytenwert der Positivkontrolle wurde auf 100% gesetzt.

Ansatz	Desquamation an Humanhaut ex vivo
Positivkontrolle	100 %
Negativkontrolle	2,5 %
Rosmarinsäure 0,1 %	82,5 %
Rosmarinsäure 0,5 %	60,0 %
Rosmarinsäure 1,0 %	33,8 %

: weight per volume

Auch Rosmarinsäure bewirkt eine konzentrationsabhängige Reduktion der Korneozytenabschuppung. Bei Verwendung von 1,0% Rosmarinsäure kann die Abschuppung auf 33,8% reduziert werden.

## Beispiel 12

## Elhibin® als Inhibitor im Desquamationstest

Elhibin® wurde in verschiedenen Konzentrationen als Desquamationsinhibitor getestet. Der Korneozytenwert der Positivkontrolle wurde auf 100% gesetzt.

Ansatz	Desquamation an Humanhaut ex vivo
Positivkontrolle	100 %
Negativkontrolle	1,4 %
Elhibin® 0,2 %	13,9 %
Elhibin® 0,5 %	9,4 %
Elhibin® 1,0 %	8,9 %

: volume per volume

Elhibin® wirkt auch in geringer Konzentration als starker Desquamationsinhibitor und zeigt bezüglich der Korneozytenabschuppung im untersuchten Konzentrationsbereich ein schwach konzentrationsabhängiges Profil.

## Bewertung der Tests

Die durch die Detergenzienmischung verursachte Desquamation der Humanhaut kann durch Phenylboronsäure, Borsäure, das Pentapeptid Z-Gly-Pro-Phe-Pro-Leu, Rosmarinsäure und Elhibin® drastisch reduziert werden. Dabei zeigten sich konzentrationsabhängige Effekte, d. h. mit Zunahme der Inhibitorkonzentration nimmt die Korneozyten-Abschuppung ab.

## Erfindungsgemäße Formulierungsbeispiele

Alle nachfolgenden Mengenangaben beziehen sich auf Gew.-% der handelsüblichen Substanzen oder Substanzgemische.

## 1. Wäßriges Liposomengel

4,0% Phospholipid (z. B. Sterprime® N10)  
6,0% Ethanol  
0,2% Konservierungsmittel (z. B. Phenonip®)  
0,5% vernetztes Polyacrylat (z. B. Carbopol® ETD 2020)  
0,2% Inhibitor\*  
ad 100% H<sub>2</sub>O (dest.)

\* Das Liposomengel wurde mit N-CBZ-GPFPL, Pefabloc®, Pefabloc® SC, Phenylboronsäure, Borsäure, Rosmarinsäure und Elhibin® (0,2 Gew.-%) als Inhibitor formuliert.

Das Lecithin wurde oberhalb seiner Hauptphasenumwandlungstemperatur durch Einspritzen einer 40%-igen ethanolschen Stammlösung in Wasser (ca. 50–60°C) dispergiert. Nach Abkühlen der Dispersion auf ca. 40°C wurde der Inhibitor und die kalte Polyacrylat-Quellung zugegeben. Anschließend wurde mit 10%-iger NaOH-Lösung auf pH = 7 neutralisiert.

Gegebenenfalls können weitere wasser- oder öllösliche Wirkstoffe (Vitamin E, Panthenol, Sonnenschutzfilter, etc.) auf bekannte Weise eingearbeitet werden.

## 2. Öl-in-Wasser PIT-Creme

- 5  
8,0% Dicaprylylether (z. B. Cetiol® OE)  
8,0% Dioctylcyclohexan (z. B. Cetiol® S)  
4,0% Cetearylalkohol (z. B. Lanette® O)  
3,0% Cetareth-20 (z. B. Eumulgin® B2)  
10 1,5% Glycerylpalmitat (z. B. Monomuls® 60-35C)  
0,5% Silikonöl (z. B. Baysilon® M 350)  
1,0% Vitamin E  
5,0% Glycerin  
0,3% Konservierungsmittel (z. B. Phenonip®)  
15 0,2% Inhibitor\*  
ad 100% H<sub>2</sub>O (dest.)

\* Die Öl-in-Wasser-PIT-Creme wurde mit N-CBZ-GPFPL, Pefabloc®, Pefabloc® SC, Phenylboronsäure, Borsäure, Rosmarinsäure und Elhibin® (0,2 Gew.-%) als Inhibitor formuliert.

- 20 Zuerst wurde ein Emulsionskonzentrat nach dem Phaseninversionsverfahren (PIT) hergestellt (T. Förster in Surfactants in Cosmetics, Hrsg.: M. M. Rieger und L. D. Rhein, Marcel Dekker, New York 1997, Bd. 2, S. 105-125, "Principles of emulsion formation") liegt zwischen 70 und 84°C. Das heiße Emulsionskonzentrat wurde abgekühlt und der Inhibitor bei 40°C in Form einer 5%-igen wäßrigen Lösung zugegeben.

## 25 3. Wasser-in-Öl Emulsion

- 8,0% Dicaprylylether (z. B. Cetiol® OE)  
8,0% Decyloleat (z. B. Cetiol® V)  
30 3,5% hydriertes Rizinusöl-Ethoxylat (z. B. Dehymuls® HRE 7)  
0,7% MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O (z. B. Veegum®)  
1,0% Vitamin E  
5,0% Glycerin  
0,3% Konservierungsmittel (z. B. Phenonip®)  
35 0,2% Inhibitor\*  
ad 100% H<sub>2</sub>O (dest.)

\* Die Wasser-in-Öl-Emulsion wurde mit N-CBZ-GPFPL, Pefabloc®, Pefabloc® SC, Phenylboronsäure, Borsäure, Rosmarinsäure und Elhibin® (0,2 Gew.-%) als Inhibitor formuliert.

- 40 Die Ölbestandteile wurden zusammen mit dem Emulgator auf 40°C erwärmt und die wäßrige Lösung der weiteren Inhaltsstoffe unter Rühren zugegeben.

## Anhang

### 45 Verzeichnis der Warenzeichen der verwendeten Rohstoffe

- 1) Sternprime® N10  
Hydriertes Soja-Lecithin  
50 Hersteller: Nattermann  
2) Phenonip®:  
Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben  
Hersteller: Nipa Laboratorien GmbH  
3) Carbopol® ETD 2020  
55 Acrylat/C<sub>10</sub>-C<sub>30</sub>-Alkylacrylat-Copolymer  
Hersteller: Goodrich  
4) Cetiol® OE  
Dicaprylylether  
Hersteller: Henkel KGaA  
60 5) Cetiol® S  
Dioctylcyclohexan  
Hersteller: Henkel KGaA  
6) Lanette® O  
Cetearylalkohol  
65 Hersteller: Henkel KGaA  
7) Eumulgin® B2  
Cetareth-20  
Hersteller: Henkel KGaA

8) Monomuls® 60-35C Hydrierte Palmölglyceride Hersteller: Henkel KGaA	
9) Baysilon® M 350 Silicone, Viskosität 350 cP Hersteller: Bayer AG	5
10) Cetiol® V Decyloleat Hersteller: Henkel KGaA	
11) Dehymuls® HRE 7 PEG-Hydriertes Rizinusöl+7-EO Hersteller: Henkel KGaA	10
12) Veegum® Magnesiumaluminiumsilikat Hersteller: Vanderbilt	15
13) Pefabloc® 4-(2-Aminoethyl)phenylsulfonylfluorid Hersteller: Boehringer Mannheim	
14) Pefabloc® SC 4-(2-Aminoethyl)phenylsulfonylfluorid mit speziellem Protector Hersteller: Boehringer Mannheim	20
15) Texapon® N 70 Natriumlaurethsulfat Hersteller: Henkel KGaA	
16) Akypo-Soft® KA 250 BVC Natrium-PEG-6-cocamidcarboxylat Hersteller: Kao Chemicals	25
17) Plantacare® 1200 UP Laurylglucosid Hersteller: Henkel KGaA	30
18) Cetiol® HE PEG-7-Glycerylcocoat Hersteller: Henkel KGaA	
19) Eumulgin® HRE 455 Ricinusölpolyglycolether, gehärtet Hersteller: Henkel KGaA	35
20) Arlypon® F Laureth-2 Hersteller: Henkel KGaA	
21) Conditioner® P7 Quaternium-7 Hersteller: Sigma	40

## Patentansprüche

- |   |    |
|---|----|
| 1. Verwendung einer Zusammensetzung, die in einem auf der Haut verteilbaren, physiologisch verträglichen Träger mindestens einen Inhibitor für die am Desmosomen-Abbau beteiligten Proteinase enthält, zur Hemmung des Abbaus von Desmosomen-Strukturen bei topisch prophylaktischer und/oder kosmetischer Behandlung trockener Haut. | 45 |
| 2. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Zusammensetzung mindestens einen Inhibitor enthält, der die am Desmosomen-Abbau beteiligten Serin-Proteinase hemmt.   | 50 |
| 3. Verwendung gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Zusammensetzung mindestens einen Inhibitor enthält, der die am Desmosomen-Abbau beteiligten Proteinase vom Typ der Trypsin- oder Chymotrypsin-ähnlichen Serinproteinase hemmt.  |    |
| 4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Zusammensetzung als Inhibitor Borsäure und/oder deren Derivate enthält.   | 55 |
| 5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Zusammensetzung als Inhibitor 4-(2-Aminoethyl)phenylsulfonylfluorid enthält.  |    |
| 6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Zusammensetzung als Inhibitor eine chemische Verbindung, enthaltend die Pentapeptidsequenz Glycin-Prolin-Phenylalanin-Prolin-Leucin (GPFPL), enthält.   | 60 |
| 7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Zusammensetzung als Inhibitor Rosmarinsäure und/oder deren Derivate enthält.  |    |
| 8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Zusammensetzung als Inhibitor den aus Leguminosensamen gewonnenen Wirkstoff Elhibin® enthält.   | 65 |
| 9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Inhibitoren in einer Konzentration von ca. 0,001–20 Gew.-% in der Zusammensetzung enthalten sind.   |    |

- Leerseite -

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**